

論文要旨

Disrupted Regulation of Ghrelin Production under Anti-hypertensive Treatment in Spontaneously Hypertensive Rats

(自然発症高血圧ラットにおける血圧調節と
グレリン産生分泌調節の相互作用の障害について)

浜田 直和

【序論および目的】

グレリンは、主に胃から分泌されるアシル化されたペプチドホルモンである。グレリンは、外部から投与されたとき、主に自律神経の調節を通じて血管の緊張を調節する。しかしながら、降圧剤投与後の生体内の血圧変動によるグレリンの産生、分泌への影響は報告されていない。そこで今回、薬理作用の異なる降圧剤を自然発症高血圧ラット(SHR)及び正常血圧(WKY)ラットに投与し、血圧変動によるグレリンの産生、分泌動態への影響について検討した。

【材料および方法】

SHR、及びWKYラットに対し、ARB(カンデサルタン)、DZN(ドキサゾシン)、MP(メトプロロール)並びにRES(レゼルピン)の4つの降圧剤をそれぞれに4週間投与し、収縮期血圧と胃内グレリン濃度、胃内グレリンm-RNA発現量及び血中グレリン濃度を測定した。降圧剤を投与しない無処置群(WKY-intact, SHR-intact)と比較して精査した。

【結果】

SHR-Intactの胃内、血中グレリン濃度は WKY-Intact より高値であった。降圧剤投与で SHR、WKY 共に収縮期血圧は有意に低下した。降圧剤(ARB, DZN, MP, RES)を投与した WKY では、WKY-intact と比較して、胃内グレリン濃度、胃内グレリン m-RNA 発現量及び血中グレリン濃度も有意に低下した。上記の降圧剤投与によるグレリンの変化は、SHR では確認されなかった。

【結論及び考察】

薬理作用の異なる降圧剤投与により、WKY ではグレリンの産生・分泌が共に抑制され、収縮期血圧レベルが直接・間接的にグレリンの産生・分泌調節を修飾する可能性が考えられた。SHR ではこの調節機構が充分に機能していないと推定された。

Circulation Journal ; 2012; 76: 1423-1429 掲載

論文審査の要旨

報告番号	総論第 9 号		学位申請者	浜田 直和
審査委員	主査	乾 明夫	学位	博士(医学)
	副査	宮田 篤郎	副査	井本 浩
	副査	濱崎 秀一	副査	野村 裕一

Disrupted Regulation of Ghrelin Production under Anti-hypertensive Treatment in Spontaneously Hypertensive Rats

(自然発症高血圧ラットにおける血圧調節とグレリン産生分泌調節の障害)

グレリンは胃から分泌されるペプチドホルモンであり、主な生理作用は成長ホルモン刺激、食欲刺激、摂食亢進作用である。これら以外の生理作用として、グレリンを健常動物に投与すると血圧が低下すること、高血圧症患者のグレリン血中濃度が上昇していることなど、循環器系に対する作用が報告されている。しかしながら、健常時および高血圧時における血圧変動がグレリンの産生・分泌にどのような影響を及ぼすかは明らかにされていない。そこで今回、薬理作用の異なる降圧薬を正常血圧ラット(WKY ラット)および自然発症高血圧ラット(SHR)に投与し、血圧変動によるグレリンの産生・分泌動態への影響について検討した。SHR 及び WKY ラットにカンデサルタン、ドキサゾシン、メトプロロール並びにレゼルビンをそれぞれ 4 週間投与し、収縮期血圧、胃組織グレリン含量およびグレリン mRNA 発現量、血漿グレリン濃度を測定し、無処置ラットと比較した。また、収縮期血圧と、胃組織グレリン含量およびグレリン mRNA 発現量、血漿グレリン濃度との関連性についても検討した。

その結果、本研究により以下の知見が得られた。

- 1) 降圧薬投与により SHR、WKY ラットいずれにおいても収縮期血圧は有意に低下した。
- 2) SHR の胃組織グレリン陽性細胞数及び胃組織グレリン含量は WKY ラットより有意に多かった。
- 3) WKY ラットでは、降圧薬投与後、胃組織グレリン含量、グレリン mRNA、血漿グレリン濃度が有意に低下し、胃内グレリン含量は収縮期血圧と有意な正の相関を示した。
- 4) SHR では、降圧薬投与後、胃組織グレリン含量、グレリン mRNA、血漿グレリン濃度の変化は認めず、胃組織グレリン含量は収縮期血圧と相関しなかった。降圧薬を投与しない場合のグレリン含量も収縮期血圧と相関しなかった。

薬理作用の異なる降圧薬投与による血圧低下に伴い、WKY ラットではグレリン産生・分泌が共に抑制され、収縮期血圧レベルが直接・間接的にグレリンの産生・分泌調節を修飾する可能性が考えられた。一方、SHR では降圧薬投与によってもグレリンレベルに変動がみられず、この血圧変動によるグレリンの産生・分泌調節機構が障害されている可能性を示した点は非常に興味深い。今回の実験により、自然発症高血圧ラットにおける血圧調節とグレリン産生分泌調節の障害を明らかにした。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	総論第 9 号		学位申請者	浜田 直和
審査委員	主査	乾 明夫	学位	博士 (医学)
	副査	宮田 篤郎	副査	井本 浩
	副査	濱崎 秀一	副査	野村 裕一

主査および副査の 5 名は、平成 24 年 12 月 17 日、学位申請者 浜田 直和 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

(質問 1) SHR ではグレリン分泌調節機構が破綻しているとあるが、それはどういう意味か。

(回答) 通常グレリンは血圧を低下させるにもかかわらず、SHR では血漿グレリン濃度の上昇と高血圧が同時に存在し、降圧薬により血圧を低下させても血漿グレリン濃度は低下しなかったことから、グレリンの分泌調節機序が破綻していると考えた。

(質問 2) 本研究では、mRNA の測定を NIH image を用いた半定量法で行っている。最近は mRNA は real time PCR 法により測定されることが多いが、測定法は適切か。

(回答) 本研究では我々のグループが以前よりグレリンの研究に用いてきた方法で行ったが、ご指摘のように real time PCR 法がより適切だと思う。

(質問 3) SHR ではグレリン分泌調節機構が破綻しているということであるが、SHR において降圧時にグレリンが低下しないだけで、破綻と言えるのか。

(回答) ご指摘のように、論文では障害と表現しており、破綻というより障害という方が適切だと考える。

(質問 4) 降圧薬投与群のうち、レセルピン投与群では WKY ラットおよび SHR ともに体重が減少し、かつ、血漿グレリンも胃内の活性型グレリンも低下している。グレリンの生理作用を考えれば、このような体重減少時には、逆にグレリンは増加するのではないか。

(回答) レセルピンは抑うつ作用や食欲不振作用により体重を減少させたと考えているが、レセルピンがグレリン分泌を抑制した可能性も考えられる。

(質問 5) 外因性に投与したグレリンが血圧を低下させることは理解できるが、高血圧時に内因性に増加するグレリンは、血圧を低下させる方向に作用するのか。

(回答) 内因性のグレリンも、血圧を低下させる方向に働くと考える。しかしながら、高血圧は維持されることから、高血圧にはグレリン以外の因子が関与していることが考えられる。

(質問 6) もし、胃全摘をしてグレリン分泌を低下させたとしたら、血圧はどう変化すると予想されるか。

(回答) グレリン分泌が低下する状況であれば、血圧は上昇すると予想される。また、胃全摘によりい痩となり血圧は低下すると考えられるがその効果は不明である。

(質問 7) 肥満患者では血漿グレリン濃度は低いが、肥満患者の高血圧とグレリンの関連はどうか。

(回答) 肥満と血漿グレリン濃度には負の相関があると報告されている。肥満患者における血漿グレリン濃度の低下は、高血圧の発症に関連する可能性があるが、高血圧との関連に関する報告はない。

(質問 8) 今回の実験では WKY ラットを 4 週間飼育すると、血圧が有意に上昇しているが、それは一般的のことか。

(回答) 一般に、WKY ラットの血圧は加齢による上昇傾向はあるものの、有意差を認めることはない。

(質問 9) WKY ラットにグレリンを投与すると血圧が低下しているが、その際、血漿ノルアドレナリン、血漿アルドステロン、血漿アンギオテンシン II の変動はどうか。

(回答) 外因性にグレリンを投与した実験では、血漿ノルアドレナリンは変化せず、血漿アルドステロンは増加すると報告されているが、血漿アンギオテンシン II については報告されていない。

(質問 10) 女性の高血圧患者や妊娠時の高血圧では、血漿グレリンが上昇するということであるが、今回の実験で雌性ラットを使うことは考えなかったか。

(回答) 雌性ラットでは性ホルモンが病態に影響する可能性があることから、今回の実験でも雄性ラットを用いた。

(質問 11) WKY ラットと比較して SHR の血漿グレリン濃度は上昇しているとの報告であったが、今回の実験では両者に有意差が無いが、その理由はなぜか。

(回答) 先の報告では活性型及び非活性型を含めたグレリンを測定しており、今回の実験では活性型グレリン濃度のみを測定していることが、結果の相違に関連している可能性がある。

(質問 12) SHR に降圧薬を投与すると、インスリン抵抗性が改善しているが、その機序はどう考えるか。

(回答) 肥満ではインスリン抵抗性が生じ、それに関連して高血圧が発症すると考えられており、逆に、高血圧の改善によりインスリン抵抗性が改善したと考えられる。

(質問 13) まとめ II のスライドで、無処置群 SHR のグレリン動態を++++と表しているが、+++は胃内活性型グレリン濃度であり、血漿活性型グレリン濃度は++である。この場合には、血漿活性型グレリン濃度の++を用いるべきではないか。

(回答) その通りである。

(質問 14) 同一週齢であっても、WKY ラットと SHR の体重は有意差があるが、一般に SHR の体重は WKY ラットに比べ軽いのか。

(回答) SHR の体重は WKY ラットより軽い傾向にあり、有意差を認めることもある。

(質問 15) 血漿グレリン濃度の測定に際し、血液サンプルの塩酸処理を行ったか。

(回答) 塩酸処理を行った。

(質問 16) 今回の実験では、食事制限をしていないが、摂食量に差はなかったか。

(回答) レセルピン投与群では摂食が低下していたが、それ以外は摂食量に差は無かった。

(質問 17) HOMA-IR は通常空腹時に測定するが、今回食後期に測定したのはなぜか。

(回答) 同一時間帯に統一し、食後期に測定した。

(質問 18) グレリンの生理作用は空腹時にあるが、今回材料採取を食後期に選んだのはなぜか。

(回答) 今回の実験では空腹時ではなく、同一時間帯に統一し、食後期にサンプルを採取した。

(質問 19) レセルピンがグレリン分泌と関連している可能性があるということであるが、そのような報告があるか。

(回答) レセルピンが、絶食によるグレリン上昇を抑えることが報告されている。

(質問 20) グレリンの分泌は、 β 作用により促進、 α 作用により抑制される。レセルピンは α 、 β 両方の作用を抑制するが、その抑制に差がないのか。またレセルピンはグレリンへ直接作用しないのか。

(回答) α 、 β 作用に対する抑制の差及びグレリンへの直接作用についての報告はない。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者と同等あるいはそれ以上の学力・識見を有しているものと認め、博士（医学）の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。